

Title	Hepatocyte Growth Factor in Polymorphonuclear Leukocytes Is Increased in Patients with Systemic Inflammatory Response Syndrome.
Author(s)	松嶋, 麻子
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/46250">https://hdl.handle.net/11094/46250</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="#">こちら</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏 名	まつ しま あさ こ 松 嶋 麻 子
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 20129 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 18 年 3 月 24 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科生体統合医学専攻
学 位 論 文 名	Hepatocyte Growth Factor in Polymorphonuclear Leukocytes Is Increased in Patients with Systemic Inflammatory Response Syndrome (全身性炎症反応患者の多核白血球における肝細胞増殖因子 (HGF) の発現亢進に関する研究)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 杉 本 壽 (副査) 教 授 中 村 敏 一 教 授 金 倉 護

### 論 文 内 容 の 要 旨

【目的】肝細胞増殖因子 (HGF) は上皮細胞や血管内皮細胞の再生に重要な役割を果たしている。近年、多核白血球の細胞内顆粒に HGF が存在し、活性化と共に細胞外へ放出されることが *in vitro* の実験で明らかとなった。一方、SIRS の病態では、多核白血球は宿主の防御に働く一方、強い殺菌力により組織障害を起こすことが知られているが、組織の再生を誘導する可能性については殆んど研究が進んでいない。我々は、多核白血球の HGF が炎症部位局所における組織の再生に重要な役割を果たす可能性を考え、全身性炎症反応 (Systemic Inflammatory Response Syndrome; SIRS) 患者における多核白血球の HGF を測定した。

#### 【対象と方法】

高度救命救急センターに入院して SIRS の診断基準を満たした患者 24 人を対象とした。平均年齢  $57.8 \pm 16.8$  歳 (mean  $\pm$  SD)、男性 18 人、女性 6 人、侵襲の程度を示す C-reactive protein は  $20.2 \pm 12.4$  mg/dL (mean  $\pm$  SD)、SIRS の原疾患は外傷 9 人、肺炎 5 人、壊死性筋膜炎 2 人、他 8 人であった。

多核白血球の細胞内 HGF の測定は、抗 HGF 抗体を用いたフローサイトメトリー法、免疫染色法、Western blot 法で行った。また、多核白血球を FMLP または LPS で刺激した後、細胞成分を除いた上清中の HGF を ELISA 法で測定することにより、HGF の細胞外放出を評価した。多核白血球の活性化の指標として、活性酸素産生能をフローサイトメトリー法で測定し、全身の炎症反応の指標として血漿の IL-6、IL-8 を ELISA 法で測定した。同様に血漿中の HGF も ELISA 法で測定した。

#### 【結果】

抗 HGF 抗体を用いた免疫染色では、多核白血球の細胞質に HGF が点状に染まり、HGF が細胞内顆粒に存在する像がとらえられた。フローサイトメトリー法で測定した細胞内 HGF は、無刺激、FMLP 刺激、LPS 刺激いずれの反応においても、SIRS 患者では健常人に比べ、有意に高い蛍光強度を示した (無刺激; SIRS 患者  $171.0 \pm 6.6$  vs. 健常人  $130.7 \pm 3.8$ ,  $p < 0.05$ 、FMLP 刺激; SIRS 患者  $207.9 \pm 7.4$  vs. 健常人  $167.0 \pm 3.2$ ,  $p < 0.01$ 、LPS 刺激; SIRS 患者  $203.3 \pm 7.4$  vs. 健常人  $163.4 \pm 2.9$ ,  $p < 0.01$  (平均蛍光強度/細胞))。Western blot 法では、細胞内の活性化型 HGF ( $\alpha$  HGF) は LPS 刺激後、経時的な増加を示した。以上の結果より、SIRS 患者の多核白血球には健常人に比

豊富な HGF が存在し、FMLP、LPS の刺激により活性化型 HGF ( $\alpha$  HGF) に変化すると考えられた。

In vitro において、多核白血球から放出される HGF について測定したところ、SIRS 患者では多核白血球の HGF 放出は無刺激の状態でも健常人を上回っていたが(無刺激; SIRS 患者  $2043.0 \pm 583.7$  pg/ml vs. 健常人  $412.3 \pm 67.3$  pg/ml)、FMLP、LPS 刺激後は、更に多量の HGF が放出され、SIRS 患者における上清中の HGF 濃度は健常人に比べ、有意に高くなっていた(FMLP 刺激; SIRS 患者  $6250.8 \pm 1218.5$  pg/ml vs. 健常人  $1930.5 \pm 182.5$  pg/ml,  $p < 0.05$ 、LPS 刺激; SIRS 患者  $3688.6 \pm 895.0$  pg/ml vs. 健常人  $896.0 \pm 221.2$  pg/ml,  $p < 0.05$ )。

多核白血球の活性化の指標である活性酸素産生能の値は、SIRS 患者において健常人に比べ有意に高値を示し、(SIRS 患者  $108.0 \pm 8.3$  vs. 健常人  $80.6 \pm 5.6$  蛍光強度/細胞、 $p < 0.05$ )、多核白血球は活性化状態にあると考えられた。

以上より、SIRS 患者において活性化された多核白血球は健常人に比べ豊富な HGF を含有し、更なる刺激により多量の HGF を細胞外へ放出することが明らかとなった。

また、SIRS 患者の血漿では HGF 値は健常人に比べ高値を示したが、フローサイトメトリーで測定した細胞内 HGF との間には相関を認めず、血漿中には他細胞由来の HGF の関与が大きいと考えられた。

#### 【総括】

1. フローサイトメトリー法で細胞内 HGF を測定する方法を開発した。
2. SIRS 患者では多核白血球の細胞内 HGF が健常人に比べ有意に増加していた。
3. SIRS 患者の多核白血球は健常人に比べ多量の HGF を放出していた。

本研究は多核白血球の顆粒に存在する再生因子に注目し、SIRS 患者で HGF が有意に増加していることを示した。これらの結果より、侵襲時の全身性炎症反応では、炎症部位において多核白血球から HGF が放出され、組織の修復に関与する可能性が考えられる。多核白血球の HGF が SIRS の病態でどのように変化するか、また、多核白血球による HGF 放出と組織修復の関連性については、今後、更に研究が発展することが期待される。

#### 論文審査の結果の要旨

この論文は、多核白血球に含まれる HGF (肝細胞増殖因子) に注目し、重症病態における多核白血球の新たな役割を探る研究である。

救急領域において未だ救命困難な多臓器不全の原因となる SIRS (全身性炎症反応) では、多核白血球が宿主の防御に働き、同時に強い殺菌力により組織障害を起こすことが知られている。その中で、筆者らは、近年明らかとなった多核白血球の細胞内顆粒に存在する HGF が組織の修復に重要な役割を果たす可能性を考え、本研究を行っている。

まず、多核白血球の細胞内 HGF をフローサイトメトリー法で測定して、細胞内 HGF 含有量を SIRS 患者と健常人で比較した後、in vitro で、SIRS 患者と健常人の多核白血球から放出される HGF を ELISA 法で測定している。その結果、SIRS 患者では、健常人と比較して、活性化された多核白血球細胞内に豊富な HGF を含有し、更なる刺激により多量の HGF を細胞外へ放出していることを明らかにした。これらの結果は、侵襲時に多核白血球が集積する炎症局所において多核白血球が HGF を放出し、組織の修復に関与する可能性を示している。

救命救急領域において SIRS 患者を対象にした再生医療へ臨床応用される可能性を有し、学位論文に値する。